

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1900

THÈSE

N°

21

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue samedi 3 novembre 1900 à 1 heure.

PAR
E. WEISS

Né à Baronsweiller (Haut-Rhin) le 3 avril 1874

Licencié ès-sciences physiques

Attaché au Laboratoire de Bactériologie de la Ville de Paris

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DES

MÉTHODES SERVANT A DÉTERMINER

LE

POUVOIR ANTISEPTIQUE

Président : M. HUTINEL, professeur.

Juges : MM. DEBOVE, professeur
MARFAN et VAQUEZ, agrégés.

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'enseignement médical.

PARIS

L. BOYER

IMPRIMEUR DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

15, rue Racine, 15

1900



THÈSE

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1900

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue samedi 3 novembre 1900 à 1 heure.

PAR

E. WEISS

Né à Baronsweiller (Haut-Rhin) le 3 avril 1874

Licencié ès-sciences physiques

Attaché au Laboratoire de Bactériologie de la Ville de Paris

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DES

MÉTHODES SERVANT A DÉTERMINER

LE

POUVOIR ANTISEPTIQUE



Président : M. HUTINEL, professeur.

*Juges { MM. DEBOVE, professeur
MARFAN et VAQUEZ, agrégés.*

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'enseignement médical.

PARIS

L. BOYER

IMPRIMEUR DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

15, rue Racine, 15

1900

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen.		M. BROUARDEL
Professeurs		MM.
Anatomie.		FARABEUF.
Physiologie.		CH. RICHEL.
Physique médicale.		GARIEL.
Chimie organique et chimie minérale.		GAUTIER.
Histoire naturelle médicale.		BLANCHARD.
Pathologie et thérapeutique générales.		BOUGHARD.
Pathologie médicale.	}	DEBOVE.
Pathologie chirurgicale.		HUTINEL.
Anatomie pathologique		LANNELONGUE
Histologie.		CORNIL.
Opérations et appareils.		MATHIAS DUVAL
Matière médicale et pharmacologie.		TERRIER.
Thérapeutique.		POUCHET.
Hygiène.		LANDOUZY
Médecine légale.		PROUST.
Histoire de la médecine et de la chirurgie		BROUARDEL.
Pathologie expérimentale et comparée.		BRISAUD.
		CHANTEMESSE
Clinique médicale.	}	POTAIN.
		JACCOUD.
		HAYEM.
		DIEULAFOY
		GRANCHER.
Maladie des enfants.		JOFFROY.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale		FOURNIER.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.		RAYMOND.
Clinique des maladies du système nerveux.		BERGER.
	}	DUPLAY.
Clinique chirurgicale.		LE DENTU
		TILLAUX.
Clinique ophthalmologique.		PANAS.
Clinique des maladies des voies urinaires.		GUYON.
Clinique d'accouchements.	}	BUDIN.
		PINARD.

Agréés en exercice.

MM.			
ACHARD	DESGREZ	LEJARS	THIROLOIX
ALBARRAN	DUPRÉ	LEPAGE	THOINOT
ANDRE	FAURE	MARFAN	VAQUEZ
BONNAIRE	GAUCHER	MAUCLAIRE	VARNIER
BROCA (Aug.)	GILLES DE LA	MENETRIER	WALLICH
BROCA (ANDRÉ)	TOURETTE	MERY	WALTHER
BHARRIN	HARTMANN	ROGER	WIDAL
CHASSEVANT	LANGLOIS	SEBILEAU	WURTZ
DELHET	LAUNOIS	TEISSIER	
	LEGUEU	THIERY	

Chef des Travaux anatomiques : M. RIEFFEL.

Par délibération en date du 9 décembre 1793, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A. LA MÉMOIRE DE MON PÈRE ET DE
MA MÈRE

Hommage de piété filiale et de profonde reconnaissance.

A LA MÉMOIRE DE MES GRANDS PARENTS

A MES SŒURS

Témoignage de mon amitié.

A MON ONCLE ET A MA TANTE

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR HUTINEL

Médecin des hôpitaux.
Chevalier de la Légion d'honneur.

Depuis trois ans que nous sommes au laboratoire de Bactériologie, nous avons eu à plusieurs reprises à déterminer la valeur antiseptique de certains corps.

Nous avons été ainsi amenés à faire un historique assez complet de la question et nous avons pu nous rendre compte que, malgré les nombreux travaux parus sur ce sujet, les résultats n'étaient pas toujours à l'abri de toute critique. C'est à peine si les auteurs consacrent quelques mots à l'exposé de leur méthode, tandis qu'ils se noient dans les détails lorsqu'il s'agit des résultats qu'ils ont obtenus.

Aussi, après quelques généralités sur les antiseptiques et leur pouvoir, avons-nous étudié les divers facteurs dont il faut tenir compte pour avoir des résultats comparables.

Puis, passant en revue les différentes méthodes employées dans les divers cas qui peuvent se présenter nous avons indiqué les causes d'erreur inhérentes à chaque procédé et nous avons indiqué les modifications qu'ils ont subies ou pourraient subir le cas échéant.

Nos idées ne sont pas neuves ; d'autres plus autorisés que nous les ont émises longtemps avant nous, mais nous croyons qu'il était urgent d'y revenir, car, dans de nouveaux travaux parus cette année, les auteurs ne semblent même pas se douter que leurs résultats n'aient de valeur qu'à la condition d'être précis dans les détails de leurs expériences et d'avoir opéré autant que possible à

l'abri des causes d'erreur si multiples qui peuvent fausser leurs résultats et annihiler leurs travaux.

La thèse, ainsi que nous nous plaisons tous à le répéter, est la dernière étape du chemin plus ou moins long et tortueux que l'Etudiant a suivi pendant son passage à la Faculté de Médecine. C'est une occasion pour lui de témoigner sa gratitude à ceux qui ont guidé ses premiers pas dans cette voie, et contribué à son éducation médicale.

Fidèles à cette pieuse coutume, nous adressons nos remerciements les plus sincères à M. *Barth* dans le service de qui nous avons appris à ausculter les malades, à M. le Professeur *Jaccoud* à MM. *Moutard-Martin* et *Champetier de Ribes* dont nous avons assidûment suivi les services.

M. *Legueu* qui fut pour nous, comme pour tous ses élèves d'ailleurs un maître bon et bienveillant a droit à toute notre reconnaissance, ainsi que M. le Professeur *Duplay* et son chef de clinique M. *Marion* pour les admirables leçons cliniques que nous avons régulièrement suivies pendant deux ans et dont nous avons tiré un grand profit.

Nous ne saurions oublier le chef de notre Laboratoire, M. le Dr *Miquel*, et nous lui exprimons ici toute notre gratitude pour la façon dont il nous a facilité nos études médicales.

Que M. le Professeur *Hutinel*, qui a bien voulu accepter la présidence de notre thèse, daigne agréer l'expression de notre vive reconnaissance.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DES

MÉTHODES SERVANT A DÉTERMINER

LE

POUVOIR ANTISEPTIQUE

Longtemps avant les découvertes de Pasteur on avait cherché à lutter contre la putréfaction ou les suppurations. Si le mot d'antiseptique n'existait pas du temps d'Homère ou d'Hippocrate, on faisait néanmoins de l'antiseptic. On employait couramment à cette époque du vin, soit pour drainer la plèvre dans l'opération de l'empyème, soit pour laver les plaies. On se servait également de diverses huiles aromatiques bouillies, de caustiques qui n'étaient autres que des sels de cuivre et de fer (*H. Grasset*).

Plus tard, au temps de Galien, les Romains avaient connaissance de substances antiputrides : ils se servaient de résine de pin pour empêcher la fermentation vineuse et soufraient leurs tonneaux.

L'examen des momies prouve suffisamment que les Egyptiens connaissaient des antiseptiques très énergiques.

Les procédés qu'ils employaient reposaient sur l'intro-

duction de poudres aromatiques dans le corps et l'application autour du corps de bandelettes trempées dans des résines saturées d'essences que des travaux récents dont nous parlerons plus loin ont montré être fortement antiseptiques.

Plus près de nous, au XV^e siècle, *Ferri* appliquait sur les plaies des caustiques dans lesquels entraient le sublimé, le vitriol et l'oxyde de plomb. On emploie toujours à cette époque l'huile bouillante, le vin et l'alcool. *Paré* préconise le camphre contre la putridité des plaies.

Au XVIII^{me} siècle, le quinquina fit son apparition en France. Après des débuts qui le mirent au premier rang des médicaments d'alors, il était naturel qu'on l'essayât à son tour sur les plaies et les suppurations qui sous son influence devinrent meilleures.

Les mercuriaux et les arsenicaux ont été largement utilisés pendant cette période.

A cette époque le terme *antiseptique* était d'un usage courant et formait un article à part dans les *Dictionnaires de médecine*. On désignait sous le nom de remède antiseptique toute substance capable d'arrêter ou de prévenir les effets de la putréfaction. Les alcalis fixes et volatils, les baumes, les résines, les astringents, les toniques, l'alcool, les acides, la noix de galle, les sels de cuivre de fer et d'alumine, etc., sont des antiseptiques.

A cette définition du mot antiseptique il y a fort peu de choses à changer. Il suffit pour s'en convaincre de jeter un coup d'œil sur les définitions actuellement admises. On appelle en effet *antiseptique* toute substance ayant une influence marquée pour ralentir ou arrêter la pullu-

lation ou la vie des micro-organismes (Cornil et Babès *Les bactéries*) et nous pourrions ajouter avec M. Bouchard en agissant directement sur eux et non indirectement par modification de l'organisme.

Duclaux (*Microbiologie*, t. III, p. 461) s'occupant de fermentation désigne sous ce nom toute substance dont l'intervention sous une forme quelconque modifie la marche du phénomène.

Mais il nous semble que cette définition est incomplète car il ne suffit pas de modifier, il faut ralentir ou arrêter. Aussi préférons-nous la première définition et nous voyons qu'entre elle et celle datant de plus de cent ans, il n'y a qu'une différence de cause à effet.

Il n'a pas suffi de savoir que telle ou telle substance était antiseptique, il fallait savoir à quel degré elle l'était.

Aussi a-t-on créé ce mot de *pouvoir antiseptique*.

Pour nous, le pouvoir antiseptique est justement cette dose de la substance capable d'arrêter la pullulation ou la vie des germes, et nous ne disons pas ralentir et arrêter car au point de vue pratique, il ne sert de rien de ralentir la pullulation des germes.

Par cette définition même, le pouvoir antiseptique de chaque substance comprend deux nombres :

Le 1^{er} qui représente la quantité d'antiseptique la plus petite nécessaire pour arrêter la pullulation des germes.

Le 2^e qui représente la quantité d'antiseptique la plus petite nécessaire pour tuer ces germes.

Le premier est appelé **POUVOIR INFERTILISANT**, c'est-à-dire qu'à cette dose et dans telles conditions données, mélangé aux milieux nutritifs, il les rend stériles.

Le deuxième est désigné sous le nom de **POUVOIR STÉRILISANT**, c'est-à-dire qu'à cette dose et dans certaines conditions, il tue les germes sur lesquels on le fait agir.

Mais il ne suffit pas de savoir qu'à telle ou telle dose l'antiseptique infertilise ou stérilise, il faut savoir dans quelles conditions l'expérimentateur s'est placé pour obtenir ces chiffres.

C'est pour n'en avoir pas tenu compte, pour ne les avoir pas indiqués que les résultats sont si différents et parfois contradictoires.

Le pouvoir antiseptique d'une substance dépend en effet, ainsi que nous allons le voir de plusieurs facteurs qui sont :

1° Le ou les germes sur lesquels portent les expériences.

2° La nature des milieux dans lesquels on les cultive.

3° La température à laquelle on les porte.

Ce sont là 3 facteurs capitaux dont l'importance ne date pas d'aujourd'hui, car nous les retrouvons au complet dans la *Microbiologie* de 1888 de M. Duclaux. Nous allons les étudier séparément.

I. — Influence de la nature des germes sur lesquels portent les expériences.

C'est un fait banal, universellement admis aujourd'hui que le pouvoir antiseptique dépend de la nature des bactéries, est fonction d'elle comme on dit en mathématiques.

Pour s'en rendre compte il suffit d'ailleurs de jeter

un coup d'œil sur les tableaux dressés par les différents auteurs, et nous verrons que 50 gr. d'acide phénique par exemple ne gênent pas la pullulation des germes d'eau d'égoutensemencés dans un litre de bouillon, alors que 1 gr. 5 suffit, toutes choses égales d'ailleurs, à rendre stérile ce même bouillon si au lieu de germes d'eau d'égout on y a mis du Bacille Eberth.

C'est pour avoir méconnu ce précepte que les chiffres trouvés par les auteurs pour les pouvoirs infertilisants diffèrent tant les uns des autres.

Nous verrons plus loin en effet, que les premiers expérimentateurs cherchaient à déterminer le pouvoir infertilisant par la quantité de substance s'opposant à la putréfaction de la viande, du jus de viande, du bouillon, etc.

Un autre facteur, moins connu est la quantité de germes introduite dans le milieu où l'on fait agir l'antiseptique.

M. *Pottevin*, recherchant le pouvoir antiseptique de l'aldéhyde formique sur les levures, titre les conclusions suivantes de ses expériences :

1° Si la quantité de cellulesensemencées est petite, le pouvoir antiseptique est variable.

2° Si le nombre des germes est suffisant, le pouvoir antiseptique est fixe.

3° Si onensemence le milieu avec des doses massives le pouvoir antiseptique augmente ; cela tiendrait d'après lui, à ce que l'aldéhyde formique se trouverait partiellement fixé par les globules. L'excès d'aldéhyde formique qu'il faudrait ajouter à la quantité fixe trouvée dans le cas où le nombre des germes est suffisant, représenterait la quantité d'aldéhyde fixée.

Nous ne savons pas si ces expériences ont été reprises avec les Bactéries, mais nous doutons fort que la différence soit aussi tranchée que pour les levures. Néanmoins c'était un point à signaler dont nous essayerons de tenir compte. Il suffit pour cela, il nous semble, d'ensemencer le milieu sur lequel on fait agir l'antiseptique toujours avec la même quantité d'une culture pure sur bouillon datant d'un nombre de jours fixés et de faire agir l'antiseptique soit de suite après l'ensemencement, soit un nombre déterminé mais fixe d'heures après.

II. — Influence de la nature du milieu sur lequel on cultive les bactéries.

C'est un fait tout aussi bien connu et admis maintenant que le précédent.

Jalan de La Croix obtient des résultats différents suivant qu'il emploie comme milieu de culture le jus de viande cuit ou le jus de viande cru.

Raulin déjà en 1870 dans ses travaux sur l'*Aspergillus niger* avait noté l'influence du milieu sur le développement de ce champignon. Il avait pour l'étudier, réussi à trouver pièce par pièce un milieu sur lequel l'*Aspergillus* croissait très bien. Venait-on à en changer la composition ou à la modifier légèrement, l'*Aspergillus* ne croissait plus. C'est ainsi que le nitrate d'Argent est toxique pour l'*Aspergillus* à des doses où il est inoffensif pour la plupart des bactéries.

D'ailleurs, il nous semble bien inutile de remonter si loin et de par l'étude même des microbes, ne savons-nous pas qu'il en est qui poussent plus ou moins bien sur les divers milieux sur lesquels on les cultive ? Ne savons-nous que les milieux glycélinés sont favorables au bacille de la Tuberculose ?

C'est un fait même qui est de toute évidence quand on admet que le pouvoir antiseptique dépend la nature de la bactérie, car un même milieu nutritif pourra renfermer une dose de substance capable de le rendre stérile vis-à-vis de tel microbe alors que tel autre y poussera librement.

Ce qu'il y a d'important, c'est d'avoir un milieu facile à préparer, toujours identique à lui-même où les bactéries s'y développent bien. A ce point de vue, nous avons toujours été satisfaits du bouillon obtenu en faisant dissoudre 20 gr. de peptone dans un litre d'eau bouillante.

Quand toute la peptone est dissoute, on laisse bouillir à petit feu pendant quelques minutes, on ajoute 6 gr. de sel, et on filtre la solution lorsqu'elle est refroidie et préalablement neutralisée.

Il n'est pas indifférent de mettre du sel en plus ou moins grande quantité, car, il ressort des expériences de M. Miquel que, si dans un milieu nutritif on ajoute du sel, ce milieu devient de plus en plus nutritif, atteint son maximum lorsqu'il y a environ 6 à 7 grammes de sel par litre, puis sa nutritivité diminue au fur et à mesure que la proportion de sel augmente et finit par être totalement nulle lorsque cette proportion atteint 170 grammes par litre.

Ce milieu très simple à préparer est aussi très nutritif puisque le bacille Eberth et le bacille coli y poussent en 4 ou 5 heures. De plus il a l'avantage de pouvoir être toujours préparé de la même façon et permet, la peptone restant toujours la même, de donner des résultats comparables.

II. — Influence de la température sur la détermination du pouvoir antiseptique.

C'est un fait d'ordre purement expérimental, mais qui ne date pas d'hier, car on sait déjà depuis longtemps que la chaleur augmente le pouvoir antiseptique des substances.

Deux choses sont à considérer dans l'action de la chaleur :

1° L'action qu'elle exerce sur le microbe.

2° L'action qu'elle exerce sur l'antiseptique en augmentant son pouvoir.

L'action de la chaleur sur le microbe est des plus nettes. Quoiqu'il y ait des espèces pullulant à 0° et d'autres se développant à 60 ou 70°, il n'en est pas moins vrai que c'est là une exception et que presque toujours, le microbe présente une température pour laquelle son développement est maximum et cette température oscille entre 30 et 37 degrés centigrades.

Dès lors, si l'on vient à se placer à une température supérieure à cette température optima, il est clair que le pouvoir antiseptique variera puisqu'alors deux facteurs

agissent sur le microbe : la chaleur et l'antiseptique, et comme nous savons que l'action d'un mélange d'antiseptiques est supérieure à la somme des pouvoirs antiseptiques de chacun des corps qui entrent dans le mélange, nous ne serons pas étonnés d'apprendre que la chaleur augmente le pouvoir antiseptique des différentes substances. De nombreux travaux ont été faits sur cette importante question, et nous croyons utile de les résumer rapidement.

Koch semble être le 1^{er} en 1881 qui, dans ses études sur la détermination du pouvoir microbicide vis-à-vis de la Bactéridie charbonneuse ait étudié l'action de l'antiseptique à diverses températures.

Alors que des vapeurs d'acide phénique agissant 45 jours à 20° sur les micro-organismes contenus dans la terre ne les tuaient pas, il suffisait de les faire agir à 53° pendant 3 heures pour les tuer presque tous.

Il en est de même avec le sulfure de carbone qui n'agit pas du tout à 20° sur ces germes alors qu'il les tue tous à 80° en 2 heures.

Des expériences d'*Arloing* faites en collaboration avec *M. Chauveau* sont encore plus intéressantes, car il en résulte que la solution d'acide phénique à 3 0/0 agissant sur le virus de la septicémie gazeuse de l'homme pendant 24 heures à la température de 15° ne diminue en rien sa vitalité, alors que si on la fait agir à 36°, 6 à 8 heures d'exposition suffisent à le tuer.

A ces expériences rapportées dans la thèse de *M. Courboulès* il faut ajouter celles qui ont été insérées l'année suivante dans la thèse de *M. Truchot* où l'on fait voir que l'action combinée de la chaleur et d'antiseptiques peu

énergiques tels que l'acide borique et les solutions très faibles de sublimé tue beaucoup plus rapidement et plus facilement le *micrococcus septicus puerperalis* que l'action seule des antiseptiques.

De ces expériences, nous pouvons en tirer une conclusion très importante, c'est que, quelle que soit la température à laquelle on porte le microbe, pourvu que cette température ne soit pas trop basse, l'action des antiseptiques est d'autant plus énergique que la température est plus élevée. N'est-il pas surprenant cependant de voir une bactérie placée dans des conditions où sa vitalité n'est pas parfaite, résister à une substance antiseptique mieux que si on la plaçait dans les conditions les plus favorables à son développement ?

Cela tient à ce que le froid ne peut pas être classé dans la catégorie des antiseptiques.

Il faut, en effet, qu'il soit poussé très loin avant de diminuer la virulence des bactéries.

Les expériences de *Klepzoff* permettent tout au moins de conclure dans ce sens, car il a exposé à des froids variant entre 20 et 58 degrés au-dessous de zéro un virus charbonneux très actif et après sept jours il tuait encore le lapin.

Il semble donc bien que le froid, ou tout au moins les températures peu élevées, n'agit pas comme antiseptique mais comme fixateur de la bactérie. Il doit en effet en modifier la constitution, et quoique sa vie active soit ralentie, elle n'en est pas moins plus résistante. C'est un fait utile à constater qui nous servira plus loin, et dont

nous allons encore trouver la vérification dans les pages qui suivent.

Richet étudiant l'action de la chaleur sur les antiseptiques trouve que de deux urines prises chez le même individu au même moment et ayant reçu la même dose de sublimé, mais portées l'une à 10° et l'autre à 40°, c'est celle-là qui se putréfie la première.

Henle trouve que l'action désinfectante de la créoline, du sublimé, de l'acide phénique croît avec la température.

Remonchamp et Sugg souillent des morceaux de linge et de couvertures avec des matières fécales typhiques ou cholériques et ont trouvé que les solutions froides à 10/0 ne stérilisent ces linges qu'après 2 heures de contact, tandis que les solutions chaudes à 50° les stérilisent après 30 minutes.

Behring tue à 37 degrés les microbes du choléra et de la fièvre typhoïde avec des solutions de sublimé qui ne les tuaient pas à 3 degrés.

Hammer se servant d'une solution de crésol dans le métacrésotate de soude remarque que son action sur les spores de charbon est beaucoup plus énergique à 33 degrés qu'à dix degrés, et note qu'à 55° il suffit d'une exposition de 5 minutes pour tuer les germes avec la solution à 10 0/0.

Heider se servant pour ses expériences de la méthode de Koch que nous étudierons plus loin arrive aux mêmes conclusions, et trouve entre autres résultats que l'acide phénique à 5 0/0 tue les spores du charbon en 30 ou 40 jours à 15°, en une ou deux heures à 55°, en 3 à 15 minutes à 75°.

L'acide sulfurique à 5 0/0 tue ces mêmes spores en 3 heures à la température de 55° tandis que le mélange phénylsulfurique à poids égaux tue à la dose de 5 0/0 ces mêmes germes en 30 minutes à 55°, ce qui en payant est une nouvelle vérification de la loi établie par M. Bouchard et que nous rappelions il y a quelques instants, à savoir que, toutes choses égales d'ailleurs, la somme des pouvoirs antiseptiques des corps qui entrent dans un mélange est inférieure au pouvoir antiseptique du mélange.

Chamberland et Fernbach, dans leurs expériences, notent aussi l'influence de la chaleur sur l'action des antiseptiques. Ainsi, tandis qu'à 15° avec une eau oxygénée du commerce, les spores de *Bacillus subtilis* ne sont tuées qu'après 3 heures de contact, il suffit d'une heure lorsqu'on fait les expériences à 50°.

De toutes ces expériences, ressort clairement l'augmentation du pouvoir antiseptique sous l'influence de températures plus ou moins élevées.

Au laboratoire, ne pouvant reproduire toutes les conditions de la clinique nous sommes forcés de nous placer dans les conditions les plus favorables à la résistance des germes et c'est pour cela que nous avons choisi les températures de 15 à 18 degrés pour étudier l'action antiseptique des substances sur les microorganismes.

IV. — Influence de causes diverses sur la détermination des pouvoirs antiseptiques.

A côté des causes que nous venons d'énumérer et qui constituent un trépied solide devant servir de base à toutes les expériences, il en est d'autres qui, quoique moins importantes, doivent néanmoins être connues, afin de pouvoir les éliminer autant que possible et se placer toujours dans les mêmes conditions pour obtenir des résultats absolument comparables.

1° Influence du support du germe.

C'est une cause d'erreur très fréquente, très utile à mettre en relief et que nous comprendrons mieux lorsque nous étudierons le pouvoir stérilisant (page 39).

2° Influence de l'agitation des milieux sur le développement des germes.

Horvath a annoncé que l'agitation contrariait ou empêchait le développement des microbes.

Cependant, cela ne semble guère vrai pour les levûres car l'agitation enlevant l'acide carbonique formé favorise le développement au lieu de l'arrêter (*Duclaux*). Cela prouve une fois de plus que, dans les expériences, on ne peut pas assimiler les levûres aux bactéries.

Hoppe-Seyler constate aussi l'influence nuisible de l'agitation sur le développement des bactéries, mais admet que, si la nature du milieu est suffisante au point de vue nutritif, le développement peut se faire quand même.

3. *Influence de la lumière sur le développement des germes.*

La lumière est un facteur qui n'est pas négligeable dans toute étude bactériologique.

Nous ne pouvons citer ici la plus petite partie des expériences tentées sur ce sujet, mais nous croyons utile de donner une partie des conclusions de l'intéressant travail de *Pansini* qui touchent directement le sujet qui nous occupe.

1° Même la lumière diffuse a une action retardante sur le développement des microorganismes.

2° La lumière directe du soleil a réellement une action stérilisante sur les microorganismes, en outre d'une action retardante sur leur développement.

3° Le degré de l'action de la lumière varie suivant le terrain de la culture.

4° Les milieux nutritifs exposés à la lumière, restent propres à la vie des microorganismes.

5° La lumière retarde mais n'empêche pas la sporulation.

6° Avant de tuer les bacilles du charbon, la lumière en atténue la virulence; ce charbon atténué n'a pas de qualités vaccinales, les cultures suivantes lui font récupérer sa virulence.

Ledoux-Lebard a constaté que la lumière diffuse n'empêche pas le développement des cultures du bacille de *Loeffler* à 33°-35° tandis que la lumière solaire l'arrête.

Pour se mettre à l'abri de cette cause d'erreur, il suffit donc de préserver les étuves du contact des rayons solaires ; c'est d'ailleurs une précaution qui est prise dans tous les laboratoires. On évitera ensuite autant que possible de faire les expériences à la lumière solaire : on préférera la lumière diffuse.

*4° Variation du pouvoir antiseptique suivant que
l'on opère avec les germes secs ou humides.*

C'est là une fréquente cause d'erreur, très souvent méconnue. La divergence de résultats entre les auteurs tient à ce que les uns font agir l'antiseptique sur les germes en cultures liquides, tandis que les autres dessèchent ces germes avant de les soumettre à l'action de l'antiseptique.

Dans le second cas, on trouve que pour obtenir les mêmes résultats avec les mêmes doses d'antiseptiques il faut un temps beaucoup plus long. *M. Chamberland* conçoit la différence d'action de la façon suivante :

Lorsqu'on fait agir un antiseptique en solution sur un germe sec, la solution humidifie le germe et le transforme d'abord en germe humide de sorte que la différence de temps nécessaire pour obtenir le même résultat avec les mêmes solutions d'antiseptiques, agissant à la même température sur les mêmes microbes les uns secs les autres humides, tient au temps nécessaire à humidifier

les germes. Dans ses expériences, la durée d'humidification était environ d'une heure, et il a pu constater qu'en laissant les germes secs une heure au contact de l'eau, ils se comportaient vis-à-vis des antiseptiques comme les germes humides. Il semble donc bien que l'on doive admettre les 2 phases de l'action, mais nous ignorons si pour tous les germes la durée d'humidification est la même. Toujours est-il que nous savons qu'elle est indépendante de la température, pourvu bien entendu que celle-ci oscille entre des limites où son action sur les germes ne soit pas nocive.

5° — *Influence de la variation dans la composition des milieux avec le temps.*

Cette influence moins bien étudiée que les autres ne doit pas non plus être négligeable. Elle s'applique surtout aux milieux chimiques.

C'est ainsi que *Duclaux* dans un vieux liquide de *Raulin* datant de 20 ans et laissé à la lumière a trouvé de l'acide formique et de l'acide tartrique. Ensemencant sur un tel milieu de l'*Aspergillus niger*, il a constaté que le développement était retardé. Il y a lutte entre le germe et l'antiseptique qui peu à peu est brûlé si le milieu est assez nutritif pour soutenir le champignon; et, quand toute trace d'acide a disparu, le développement se fait comme sur un milieu normal.

Pour nous résumer et éviter autant que possible les diverses causes d'erreur que nous venons de signaler, nous dirons qu'il faut opérer dans des conditions toujours identiques de température et de milieu, avec des germes

définis et bien nets, à l'abri de la lumière et de toute cause d'agitation, réservant autant que possible pour ces expériences des milieux fraîchement préparés ou bien conservés.

Passant à l'étude des méthodes qui ont servi à déterminer le pouvoir antiseptique, nous les diviserons en trois classes suivant qu'il s'agit de rechercher le pouvoir antiseptique

1° D'un gaz ou d'une vapeur.

2° D'un liquide ou d'un solide en solution.

3° D'une poudre ou de substances non miscibles aux milieux de culture.

POUVOIR ANTISEPTIQUE DES GAZ OU DES VAPEURS

Angus Smith en 1869 semble être le premier qui ait cherché à déterminer le pouvoir antiseptique des gaz ou des vapeurs. Pour cela il se servait de flacons aux bouchons paraffinés desquels on suspendait des morceaux de viande. Dans chaque flacon il mettait le même nombre de gouttes de la substance volatile à étudier et notait le retard apporté à la putréfaction de la viande. Il remplissait également ses flacons de divers gaz de façon à déterminer leur pouvoir antiseptique relatif c'est-à-dire le pouvoir de l'un comparativement à celui d'un autre.

D'ailleurs ces expériences n'ont plus aucune valeur actuelle, et on ne les cite que pour mémoire.

Chamberland en 1887 a étudié le pouvoir antiseptique des essences volatiles. Pour cela il se servait d'un tube de Pasteur qui n'est autre chose qu'un tube en U renversé, composé par conséquent de 2 branches verticales et d'une branche horizontale reliant l'extrémité supérieure des deux branches précédentes. A chaque branche verticale est soudé un tube recourbé dont l'extrémité effilée est fermée à la lampe. La branche horizontale porte un tube présentant divers étranglements afin de pouvoir être plus facilement fermé à la lampe. Au moyen de ce tube il aspirait dans une des branches verticales de son appareil préalablement stéri-

lisé une petite quantité d'essence, en brisant la pointe effilée de ce côté et la trempant dans l'essence à analyser.

Il fermait ensuite l'extrémité du tube et recommençait la même série de manipulations pour l'autre branche dans laquelle, au lieu d'introduire de l'essence, il introduisait un milieu nutritif stérilisé composé d'eau de levure neutralisée par la potasse. Il fermait à la lampe le tube de la branche horizontale au niveau d'un de ses étranglements, laissait ainsi son milieu s'imprégner d'essence ; puis, brisant de nouveau la pointe du tube soudé à la branche renfermant le milieu nutritif, il aspirait par la branche du tube horizontal préalablement brisée, quelques gouttes d'une culture pure et ensemençait ainsi son bouillon. Il fermait ensuite tous les tubes à la lampe, portait son appareil à l'étuve, et laissait agir l'antiseptique ou plutôt les vapeurs de l'antiseptique.

Si le bouillon se troublait, cela tenait à ce que le développement n'était pas arrêté par les essences.

Ces expériences ne sont pas à l'abri de toute critique. Il est vrai que les germes sont purs et que la température peut être rigoureusement déterminée dans chaque cas, mais le bouillon nutritif qu'est-il ? Sa composition est-elle invariable ? Ne change-t-il pas avec chaque essence introduite ? Et M. Chamberland s'est si bien posé cette question qu'il l'a résolue.

Dans un certain nombre d'expériences, même après avoir mis l'intérieur de son appareil en contact avec l'air libre de façon à permettre la volatilisation de l'essence, son bouillon de culture ne se troublait pas, alors que dans ces conditions, la plupart du temps, il observait une pul-

lulation abondante de ses bactéries. Il a cherché alors à réensemencer son milieu avec de nouvelles bactéries fraîches et le bouillon restait stérile. La composition de son milieu avait donc varié. La vapeur se combinant à l'eau de levure avait formé un nouveau milieu où les germes ne pouvaient y vivre.

Sa méthode pêche donc par la base et nous ne conseillerons pas de nouvelles expériences selon ce procédé.

Fraenkel a institué des expériences sur l'acide carbonique. Il a exposé deux méthodes très simples dont l'une nous paraît le complément logique de l'autre.

Dans une 1^{re} série d'expériences, il sème dans la gélatine fondue la bactérie sur laquelle il veut étudier l'action du gaz, coule ce flacon de gélatine dans un tube stérilisé et en fait un tube d'Esmarch. Dans ce tube ainsi préparé, et fermé par un bouchon traversé par deux tubes, il fait arriver par un de ces tubes un courant de gaz CO_2 , tandis que l'autre sert de tube de dégagement et de régulateur de la vitesse du gaz.

L'acide carbonique léchant la surface de la gélatine la rend ainsi inapte au développement des germes.

Seulement, malgré la précaution qu'on ait prise de mettre peu de gélatine, de façon à en avoir une couche très mince dans le tube, il peut se faire que des germes enrobés dans la gélatine et protégés par elle puissent se développer dans la profondeur. Aussi, pour remédier cette objection a-t-il maintenu sa gélatine fondue, et c'est dans la gélatine fondue et ensemencée qu'il fit passer son courant de gaz.

Nous ne croyons pas qu'ici comme dans les expérien-

ces de M. Chamberland on puisse incriminer la combinaison de l'acide avec le milieu pour former un produit antiseptique, mais nous pensons que dans le 1^{er} cas, quelque mince que soit la couche de gélatine, il peut toujours se développer des germes dans la profondeur, et les colonies qui en résulteront pourront n'être arrêtées dans leur développement que lorsqu'elles atteindront la surface.

Dans la 2^e série d'expériences, nous rangeant à l'avis de M. *Duclaux*, nous pensons qu'il vaut mieux ne pas agiter le liquide et nous croyons que ce procédé n'est pas à l'abri de toute critique.

Cadéac et Meunier en 1890 ont repris les recherches de M. Chamberland sur les essences en employant un procédé différent. Ils enduisent d'une culture sur gélose l'extrémité d'un fil de platine flambé, le plongent dans l'essence pendant un temps variable et l'ensemencent ensuite dans un tube de gélose qu'ils portent à 37°. L'essence ne se mêle pas à la gélose, s'évapore et si les bactéries n'ont pas été tuées, il se produit une culture.

Ce procédé eût peut-être mieux trouvé sa place dans l'étude des méthodes employées pour déterminer les pouvoirs antiseptiques des substances liquides, mais il suffit d'effectuer un si faible changement dans la manière d'opérer qu'il nous a paru préférable de le décrire ici.

Si, en effet, au lieu de laisser tremper le fil de platine dans l'essence, on opère comme MM. *Blaizot et Caldaqués* en se servant de fils de platine fixés au bouchon qui ferme le tube dans lequel on a mis l'antiseptique et si on a soin de faire en sorte que ces fils ne plongent pas dans

l'essence, on se trouve dans le cas qui nous occupe.

La méthode de MM. *Cadéac* et *Meunier* ainsi modifiée nous paraît bonne, et nous n'hésiterions pas à y recourir le cas échéant.

Il y a cependant une cause d'erreur qui peut être grosse de conséquences et qui a été signalée par MM. *Blaisot* et *Caldagués*. Si, en effet, la parcelle de culture que l'on a prélevée sur gélose est un peu forte, il semble qu'il n'y ait que les couches superficielles qui soient stérilisées, car il est arrivé dans leurs expériences qu'en ensemençant successivement différents tubes de gélose par piqûre, avec le même fil de platine les derniers présentaient plus de colonies que les premiers.

Pour se mettre à l'abri de cette cause d'erreur deux chemins peuvent être suivis : ou bien diminuer la couche de la culture dont on charge le fil de platine, but que l'on atteindra facilement en se servant de cultures pures et fraîches sur bouillon ; ou bien ensemencher, comme nous le disions plus haut, plusieurs tubes de gélose avec le même fil après son exposition aux vapeurs.

M. *Thoinot* a repris sur la valeur désinfectante de l'acide sulfureux les expériences de *Dubief* qui consistaient à exposer des tubes de gélatineensemencés avec différents microbes dans une cloche où se dégageait de l'acide sulfureux ; mais, dans ces conditions, les milieux de culture devenaient acides et impropres à tout développement. Pour obvier à cet inconvénient, M. *Dubief* faisait brûler du soufre dans une chambre close et comptait les germes avant et après par la méthode d'*Esmarch* que nous décrivons plus loin.

C'est de cette dernière méthode que s'est inspiré M. Thoinot qui opérait de la façon suivante :

Dans un tube à essai stérile, on dépose un carré de linge, et l'on stérilise le tout à l'autoclave.

On verse sur le linge en s'entourant de précautions pour ne pas le contaminer, quelques gouttes de culture charbonneuse ou de la bactérie que l'on veut étudier. On bouche le flacon avec sa bourre d'ouate flambée.

On dessèche ensuite le morceau de linge en portant l'appareil sous une cloche placée dans une étuve et renfermant du chlorure de calcium dans un cristalliseur. Puis on soumet ce tube à l'action des vapeurs d'acide sulfureux en le plaçant dans une chambre hermétiquement close dans laquelle on fait brûler une certaine quantité de soufre. Pour débarrasser le substratum de toute trace d'antiseptique, on lave à l'eau stérilisée et on ajoute du bouillon neuf dans le tube. S'il se trouble, l'action de l'acide n'a pas été suffisante.

M. Thoinot note des cas où le bouillon ne s'est pas troublé et où cependant l'inoculation du produit provenant de l'expression du carré de linge a été positive.

Sans chercher à donner une explication de ces faits, il nous semble que cela démontre dans ce cas la supériorité comme milieu nutritif de l'organisme animal aux diverses préparations de bouillon que l'on fait dans les laboratoires.

Cependant il peut se faire que dans ces expériences tout l'antiseptique n'ait pas été enlevé par l'eau de lavage et qu'il en reste une quantité suffisante pour rendre le bouillon stérile, et l'on pourrait pour se mettre à l'abri de

cette cause d'erreur, chercher à le neutraliser avant de faire l'ensemencement.

Ces expériences ont certainement donné des résultats comparatifs, mais la méthode ne peut pas être érigée en méthode générale, car le dosage de l'acide sulfureux repose sur la détermination de la quantité de soufre brûlé. On ne pourrait l'appliquer qu'aux cas où l'on cherche à déterminer le pouvoir antiseptique des gaz produits par des corps en combustion.

Sonntag expérimentait sur l'ozone et cherchait à déterminer son action sur les bacilles charbonneux desséchés sur des fils de soie. Il dosait exactement la proportion d'ozone par litre nécessaire pour tuer les bacilles charbonneux après 24 heures d'exposition.

J. de Christmas en 1893 répète les mêmes expériences en employant des procédés plus exacts pour l'analyse quantitative de l'ozone, mais au lieu de se servir de fils de soie comme l'expérimentateur précédent, il emploie des tubes fraîchement ensemencés qu'il place dans une atmosphère ozonisée et note la proportion d'ozone capable d'entraver le développement.

Quoique postérieur au précédent, ce procédé nous paraît moins recommandable que lui, à cause de l'action inconnue que peut avoir l'ozone sur les milieux de culture.

Nous ne saurions terminer cette rapide revue sans indiquer le procédé employé par *M. Chamberland* pour déterminer le pouvoir antiseptique des vapeurs.

On porte à l'ébullition la substance antiseptique à étudier et on dirige les vapeurs dans une grande caisse en verre en forme de parallépipède rectangle dont le volume est

de 110 litres. Elle est fermée par une plaque de verre qui la déborde et qui est percée de petites ouvertures pouvant être obturées par des disques de verre au centre desquels est fixé un crochet de façon à pouvoir suspendre les objets dans la caisse. On imprégne avec les germes à étudier des petits carrés de papier à filtre et on les laisse sécher 72 heures à l'étuve en les mettant dans des tubes à essai stérilisés. Ces morceaux de papier étaient ensuite fixés à des armatures en fil de fer accrochés aux disques de la caisse, et arrivaient juste à la hauteur du tube de dégagement de la vapeur de sorte que les papiers étaient à des distances horizontales de 5,20 et 35 centimètres de la paroi de la caisse. Divers thermomètres donnaient la température. On a soin de n'introduire les carrés de papier que lorsque toute la cuve est remplie de vapeur et que les thermomètres indiquent une température à peu près fixe. Quand on juge l'exposition suffisante, on retire les papiers et on les sème dans des milieux nutritifs.

Nous préférierions employer au lieu de papier, des petits fils de platine enroulés plusieurs fois sur eux-mêmes de façon à pouvoir les laver à l'eau stérilisée après l'action des vapeurs, avant de les ensemençer dans du bouillon neuf.

Si l'on voulait étudier l'action de la vapeur à différentes températures, il nous semble que rien ne serait plus facile que de mettre dans la cuve un régulateur qui commanderait un bec de gaz; mais alors il serait nécessaire que le fond de la caisse ainsi directement chauffé fût en métal et non en verre.

Cela nous rappelle un petit appareil spécial que nous avons vu à la maison Adnet pour déterminer le pouvoir antiseptique des vapeurs d'aldéhyde formique à diverses températures. Il se compose d'une étuve en cuivre hermétiquement close dans laquelle par un tuyau latéral on fait arriver les vapeurs d'aldéhyde formique provenant de la décomposition par la chaleur du trioxyméthylène. L'étuve peut être réglée et portée à la température voulue. Une porte permet d'y introduire à volonté les germes soumis à l'expérience.

Nous croyons avoir exposé aussi brièvement et aussi clairement que possible les divers procédés employés successivement par les auteurs.

Pour nous résumer, nous dirons que, d'une façon générale, on peut expérimenter soit sur les germes séchés sur des fils de platine ou de soie, des morceaux d'étoffe, des carrés de papier etc.. (Thoinot, Blaizot et Caldagués, Sonntag), soit sur les germes en culture liquide (Chamberland, Grancher et Chautard), soit sur les germes en culture solide (Cadéac et Meunier, Fraenkel).

Ces deux derniers procédés doivent céder devant le premier qui peut être érigé en méthode générale et perfectionné si l'on a soin de neutraliser l'antiseptique adhérent au fil suivant les idées de Geppert que nous exposerons plus loin.

POUVOIR ANTISEPTIQUE

Des liquides ou des solutions miscibles au milieu nutritif employé.

I. — POUVOIR INFERTILISANT.

La détermination des *pouvoirs infertilisants* constitue la chose la plus simple du monde. Aussi n'y insistons-nous guère. En opérant sur des germes déterminés, avec un milieu fixe et à une température donnée en tenant compte en un mot de toutes les influences pouvant modifier la valeur du pouvoir antiseptique, on arrive facilement à déterminer la plus petite valeur de l'antiseptique capable d'empêcher la pullulation des germes dans le bouillon, et les résultats ainsi obtenus sont comparables entre eux. Quelques mots sur les expériences déjà anciennes tentées par les différents auteurs qui se sont occupés de la question nous édifieront pleinement.

Pringle le premier en 1750 mélangeait avec certaines substances putrescibles différents liquides médicamenteux et notait ceux qui empêchent ou retardent la putréfaction.

Dumas en 1872, expérimentant avec des levures, les met pendant quelque temps au contact de la substance à étudier, et voit comment elles se comportaient dans une fermentation comparativement à une levure non traitée.

O'Nial en 1872 est le premier qui ait opéré avec des milieux nutritifs et notait la quantité de substance qui empêchait ou retardait la putréfaction de son bouillon.

Jalan de la Croix en 1881 opérait sur des jus de viande crus ou cuits et recherchait la quantité de substance qui en arrêtait la putréfaction.

Miquel en 1882 se sert d'un bouillon fixe et détermine le pouvoir infertilisant de certaines substances vis-à-vis des germes de l'air ou de l'eau d'égout. Il put ainsi dresser un tableau de substances dont le pouvoir infertilisant allait en décroissant.

Entre temps divers auteurs (*Davaine* en 1874, *Koch* en 1881) déterminaient le pouvoir infertilisant pour une bactérie donnée : la Bactéridie charbonneuse.

Puis viennent les expériences précises de *Yersin*, de *Vignal*, de *Tarnier* et *Vignal* qui opèrent dans des conditions où les résultats restent comparables les uns aux autres. Nous croyons inutile d'y insister plus longuement et nous passons de suite à l'étude du pouvoir stérilisant.

II. — POUVOIR STÉRILISANT OU BACTÉRICIDE.

Sans vouloir faire de nouveau un historique plus ou moins complet et fastidieux, nous préférons exposer une méthode générale et voir les diverses modifications qu'on peut lui faire subir.

Tout d'abord, trois procédés peuvent être suivis selon que l'on expérimente, comme pour les vapeurs,

Sur les germes secs,

Sur les germes en culture liquide.

Sur les germes en culture solide.

1° *Germes secs.*

Dans ce procédé qui est celui imaginé par *Koch* en 1881, on opère de la façon suivante : On se sert de fils de soie non tordus, fixés au bouchon d'un tube à essai. On stérilise le tout à l'autoclave et les fils sont prêts à servir. Pour les utiliser, on les suspend dans des flacons renfermant une culture fraîche sur bouillon du germe à étudier. On les sèche ensuite en les portant, après les avoir mis dans le tube à essai stérilisé, sous une cloche placée dans une étuve et renfermant du chlorure de calcium ou de l'acide sulfurique pour en dessécher l'air. Lorsque l'on juge les fils suffisamment secs, on les trans-

porte dans la solution antiseptique à étudier ; on les y laisse des temps variables, et, après les avoir lavés dans un mince filet d'eau stérilisée pour enlever l'excès d'antiseptique, on les porte dans du bouillon neuf. Si celui-ci se trouble cela indique que la solution employée n'a pas été suffisante pour tuer le germe.

On voit combien sont compliquées et délicates les diverses manipulations et combien sont grandes les chances d'infection.

Cependant, il semblerait que ces chances de contaminations mises à part, on ait des résultats très exacts.

Il n'en est malheureusement rien ; les résultats obtenus pour les divers antiseptiques ne sont pas comparables entre eux ; seuls sont comparables les résultats d'un même antiseptique sur les différents agents microbiens.

Cela tient à ce qu'après le lavage le plus soigné, il reste après le fil de soie suffisamment d'antiseptique pour empêcher le germe de se multiplier.

C'est à *Geppert* que revient l'honneur d'avoir insisté sur cette cause d'erreur. Il a montré que si, avant d'introduire les fils dans le bouillon, on neutralisait chimiquement l'antiseptique qui y adhérerait en le précipitant par un réactif approprié, le pouvoir antiseptique ainsi obtenu était bien inférieur aux nombres donnés par Koch. Il employait l'acide acétique 1/20) pour neutraliser les bases alcalines, l'acide sulfurique à 1/1000 pour la chaux, une solution étendue de sulfhydrate d'ammoniaque pour le sublimé.

Les expériences de *E. Braatz* ont également démontré que les fils de soie forment avec les antiseptiques un mélange beaucoup plus intime que les fils de coton, aussi

préconise-t-il pour cette méthode l'emploi de ces derniers fils.

Chamberland et Fernbach se servant de la même méthode, emploient comme support des germes successivement du verre, du papier et de l'étoffe.

Voici en quelques mots la marche qu'ils suivaient :

On stérilise au four à 180° des lamelles placées dans un tube à essai court fermé par un tampon de coton. Avec un tube effilé on introduit quelques gouttes d'une culture pure du germe sur lequel on opère de façon à arroser la lamelle. Ces tubes sont ensuite mis à sécher 72 heures à l'étuve à 34°.

On introduit alors dans le tube 5 cc. de l'antiseptique à étudier qu'on laisse agir le temps voulu, puis avec une pince flambée on détache la lamelle, on la lave dans 100 cc. d'eau et on la porte dans 100 cc. de bouillon qui se trouble si le germe n'a pas été tué.

Dans une autre série d'expériences portant surtout sur les organismes sans spores, ils fixaient aux bouchons de flacons à large goulot des papiers imprégnés d'une culture sur bouillon de bacille typhique. Il est clair qu'avant de s'en servir, le flacon et son contenu doivent être stérilisés. On dessèche ensuite ces papiers et on les soumet à l'action de l'antiseptique, on les lave comme dans le cas précédent et au moyen de ciseaux flambés, on en coupe un petit morceau qu'on sème dans le bouillon.

Il est un résultat des expériences de MM. *Chamberland* et *Fernbach* qui nous a beaucoup frappé et sur lequel nous attirons ici l'attention de ceux qui étudieront l'action des antiseptiques sur les germes secs. Ce résul-

tat a trait à la nature du support. Ils ont en effet trouvé que le pouvoir stérilisant n'était pas le même suivant que l'on opère avec des germes desséchés sur du papier, de l'étoffe ou du verre. Ainsi, tandis que, toutes choses égales, dans une de leurs expériences les germes desséchés sur papier étaient tués après 45 minutes, ceux qui l'étaient sur verre ne mouraient qu'après 1 heure, et après une heure et demie, ceux qui étaient desséchés sur de l'étoffe résistaient encore.

Tarnier et Vignal se servant comme support de fils de soie et de flanelle, ont trouvé que, dans le second cas, toutes choses égales d'ailleurs, il fallait un peu plus de temps pour tuer les germes.

C'est là, nous le répétons, un fait capital qui doit entrer en ligne de compte pour obtenir des résultats comparables.

Pottevin employait comme support des germes des morceaux de toile, et avant de les introduire dans le bouillon, fidèle aux règles de Geppert, il neutralisait par une solution très étendue d'ammoniaque le formol sur lequel portait ses expériences.

Chassevant et Got modifiant légèrement les procédés antérieurs employaient comme support, un petit morceau de flanelle enroulé autour d'un tube de verre.

2° Germes en culture liquide.

C'est une méthode qui, à notre avis, n'a pas eu de la part des expérimentateurs toute la faveur qu'elle mérite.

Tarnier et Vignal l'utilisaient de la façon suivante dans

leur mémorable travail. Ils ensemençaient des ballons de bouillon avec une goutte de culture de streptocoque, puis les portaient 24 heures à 30°. Au bout de ce temps quelques flocons ont apparu dans le bouillon, indice d'un développement de la bactérie. On y ajoute ensuite des doses croissantes d'antiseptiques, on porte les bouillons à l'étuve à 37° ; et si la dose de l'antiseptique est suffisante, on ne voit pas au bout de quelques jours apparaître de nouveaux flocons.

C'est là une méthode fort peu exacte, car il ne nous semble pas que l'apparition d'un nouveau flocon soit toujours chose si nette qu'on ne puisse s'y tromper.

Et puis ! Quand même ce phénomène serait net, il n'indiquerait que la dose capable d'arrêter le développement des germes et non de les tuer. De plus, la température de 36° qu'ils ont choisie nous paraît déjà élevée, mais c'est une objection qui n'empêcherait pas d'obtenir des résultats comparables.

Il eut été cependant bien simple pour s'assurer de la mort des germes de prélever une goutte de la culture et de l'ensemencer dans une grande quantité de bouillon.

De cette façon, la petite quantité d'antiseptique introduite avec les germes, diluée dans cette masse de bouillon se trouve à un état de concentration tel que sa proportion est loin d'atteindre la valeur du pouvoir infertilisant, et ne peut par conséquent gêner la pullulation des germes si ceux-ci ne sont pas morts.

C'est cette méthode que nous avons toujours employée parce qu'elle est simple, rapide, de manipulations faciles et présente peu de chances d'erreur dûes à la contamination.

Dans 100 centimètres cubes de bouillon préparé comme nous l'avons dit, nous semons les germes à étudier et nous portons le flacon à l'étuve à 37°.

Vingt-quatre heures après, quand le développement est bien net, nous plaçons ces ballons dans une chambre maintenue à 18-20° pour que les germes puissent s'habituer à cette température et nous les y laissons 24 heures. Dans les milieux ainsi traités, nous mettons des doses diverses d'antiseptiques, et, après des temps variables, nous prélevons avec une anse de platine préalablement flambée une petite goutte de la culture que nous ensemençons dans des flacons renfermant 10 cent. cubes de bouillon stérile, après avoir eu soin d'agiter légèrement le ballon afin de bien disséminer les germes.

Nous portons ensuite les petits flacons de 10 cc. ainsi ensemencés à l'étuve à 37°.

S'ils ne se troublent pas, le germe est mort, et en déterminant ainsi par des expériences successives la plus petite dose d'antiseptique nécessaire pour tuer le germe, nous avons le pouvoir stérilisant.

Il n'y a pas lieu ici de tenir compte de l'antiseptique contenu dans la petite goutte avec laquelle nous ensemençons nos flacons de 10 cc. car ainsi que nous l'avons dit plus haut, la proportion d'antiseptique qui se trouve être dans ces petits flacons reste tellement faible qu'elle est négligeable. Un calcul bien simple suffit à s'en rendre compte. Si s désigne la quantité d'antiseptique ajouté, chaque centimètre cube du milieu de culture en renferme $\frac{s}{100 + s}$. Si d'autre part, nous supposons, ce qui est bien au-dessous de la réalité, que notre anse de platine

nous donne une goutte pesant $1/50$ de gramme, nous introduisons dans le flacon de 10 cc. une quantité d'antiseptique égale à $\frac{s}{(100 + s) 50}$ de sorte que chaque centimètre cube de bouillon du flacon renferme $\frac{s}{(100 + s) 50.10}$ d'antiseptique. Or cette dose est précisément la $1/500^e$ partie de la proportion d'antiseptique introduite dans le milieu de culture et nous ne connaissons pas d'exemple de substance dont le pouvoir stérilisant soit seulement 100 fois plus fort que le pouvoir infertilisant.

Par conséquent, quand bien même nous aurions mis dans le milieu de culture une dose d'antiseptique égale à 5 ou 6 fois la dose stérilisante, nous n'aurions pas encore atteint dans les petits flacons la dose qui représente le pouvoir infertilisant, et nous pourrions avoir des cultures si les germes ne sont pas tués.

Nous ne donnerons ici que les résultats que nous avons obtenus avec le bacille d'Eberth.

Comme *Dunbar*, nous avons trouvé que la dose infertilisante était comprise entre 15 et 16 décigrammes d'acide phénique par litre.

Pour les doses stérilisantes, nous avons trouvé qu'il faut par litre, des quantités d'acide phénique respectivement égales à 5 gr. 75, 5 gr. 35, 4 gr. 95 pour tuer le bacille typhique après $1/4$ d'heure, $1/2$ heure et 1 heure.

3° Cultures sur milieux solides.

Yersin prélève avec une effilure de verre une parcelle de la couche blanchâtre formée à la surface d'un tube de gélose glycinée ensemencé avec du bacille de Koch 15 jours auparavant.

L'effilure chargée de la parcelle est portée dans un tube à essai contenant la solution antiseptique. Après un temps déterminé, on fait une prise dans le dépôt au moyen d'un tube effilé, et on la fait tomber dans un tube à essai plein d'eau stérilisée.

Quelques heures après, on puise de nouveau cette semence bien lavée pour la porter dans un flacon renfermant du bouillon de veau glyciné qu'on porte à l'étuve à 39°. Si le bouillon ne se trouble pas, cela indique que dans les conditions de l'expérience la quantité d'antiseptique a été suffisante pour tuer le bacille tuberculeux. Mais il est fort possible que, dans la parcelle de culture employée, il y ait eu des places où l'antiseptique n'ait pu pénétrer, et alors que la dose était largement stérilisante on pouvait avoir un développement dans les flacons de bouillon de veau.

D'ailleurs le bacille de la tuberculose mérite d'être étudié à part au point de vue des antiseptiques, car il nous semble préférable dans ce cas particulier de recourir aux inoculations qu'aux milieux de culture.

C'est ainsi qu'ont opéré *Straus* en 1889,

Sabrazès en 1897 et 1898.

Vincent en 1895 étudiant la désinfection des matières fécales, emploie une méthode analogue à celle de *Yersin*.

Seulement il a soin après avoir fait agir les antiseptiques sur les matières fécales délayées le mieux possible dans l'urine, d'en prendre une parcelle, et de la soumettre selon la méthode de Geppert à l'action d'un agent chimique en solution très étendue afin de précipiter les dernières traces d'antiseptiques à l'état de poudre inerte. Il lave ensuite à l'eau stérilisée et sème dans le bouillon.

Nous croyons utile avant de terminer cette question, d'ajouter quelques mots sur les procédés permettant de se rendre compte de la valeur désinfectante des pulvérisations. Nous signalerons deux méthodes :

1° *Esmarch* en 1887 compte les germes de la surface à pulvériser avant et après l'opération. Pour cela, il divise cette surface en petits carrés d'égale surface et lave un de ces carrés avec une éponge bouillie stérilisée et légèrement humide. Il la plonge ensuite dans de la gélatine. Puis il fait agir la pulvérisation pendant un temps donné, nettoie ensuite un autre petit carré avec une autre éponge stérile, l'ensemence sur gélatine et du nombre de colonies qui se sont formées dans les deux cas, il déduit la valeur antiseptique de la pulvérisation.

2° *Laveran et Vaillard* font mouler des briquettes de plâtre ou de mortier, de 10 centimètres de côté sur 2 d'épaisseur. Chaque briquette présente 5 petites cupules et est stérilisée en la portant au four après l'avoir recouverte d'une lame de verre et enveloppé le tout dans du papier à filtrer.

Dans les diverses cupules d'une même briquette on dépose une goutte d'un des liquides à stériliser (culture, pus, crachats, etc...), on remet la lame de verre et on

laisse sécher. Puis on fait agir la pulvérisation pendant le temps voulu. On remet la lame de verre, on laisse sécher, on lave chaque cupule à l'eau stérilisée, on la gratte avec un scalpel flambé et l'on ensemente le produit dans des flacons de bouillon.

POUVOIR ANTISEPTIQUE

Des solides ou des liquides non miscibles au milieu employé.

Tout corps solide agissant comme une poudre inerte, c'est-à-dire ne se dissolvant pas dans le milieu employé, ne peut pas empêcher le développement des germes.

C'est là un premier point essentiel que les recherches sur l'iodoforme n'ont pas peu contribué à mettre en lumière.

Après avoir considéré l'iodoforme comme un puissant antiseptique, dont l'action s'exercerait même à distance, on est allé jusqu'à lui dénier tout pouvoir germicide.

On a constaté en effet que la poudre d'iodoforme n'empêche pas le développement de divers streptocoques et staphylocoques.

Künz cependant a remarqué ce fait capital que l'iodoforme en poudre qui ne gêne pas le développement des bactéries de la putréfaction en bouillon, l'arrête dans les inoculations sous-cutanées. Cela est dû à la solubilisation de l'iodoforme par les matières grasses. C'est ainsi qu'il agit sur les plaies en se dissolvant lentement et en agissant longtemps.

Les expérimentateurs comprirent alors qu'il fallait agir sur les solutions et ils employèrent des dissolvants variés.

De Zuyter emploie une solution éthéro-alcoolique.

Angelo Fonseca se sert d'acétone.

Et là encore on rencontre un facteur dont il faut tenir compte dans l'appréciation des résultats obtenus.

Il ne suffit pas de dire que telle poudre à telle dose dans telles conditions détruit la pullulation ou la vie de certains germes, il est nécessaire d'ajouter la nature du dissolvant.

Ainsi d'après le *D^r E. Laplace*, les solutions acides de sublimé sont plus antiseptiques que les solutions aqueuses.

Koch et *Wolffhügel* ont constaté que l'alcool et la glycérine diminuent le pouvoir antiseptique de l'acide phénique ; au contraire les acides chlorhydrique et tartrique l'exaltent.

Les liquides non miscibles au bouillon se comportent comme les poudres insolubles.

Aussi *Chamberland*, cherchant à déterminer le pouvoir antiseptique des essences sur les germes cultivés sur bouillon avait-il soin de dissoudre ces substances dans l'alcool et la saponine.

Après ces quelques mots, il nous semble bien établi que :

1° La nécessité d'un dissolvant pour les poudres insolubles ou les liquides non miscibles s'impose.

2° Les résultats obtenus varieront suivant la nature du dissolvant.

CONCLUSIONS

Arrivé au terme de notre étude, nous allons rapidement en résumer les faits importants :

1° Les pouvoirs antiseptiques n'ont de valeur qu'autant qu'ils sont comparables.

2° Ils ne sont comparables que pour une méthode donnée, avec un germe donné, dans les mêmes conditions de température et de milieu.

3° Le pouvoir antiseptique diminuant quand la température s'élève, il est préférable de faire les expériences à des températures basses, sans cependant nuire à la vitalité du germe.

4° En général, la méthode consistant à se servir des germes sur culture solide, offre moins de sécurité que les autres.

5° La méthode des suspensions est la meilleure pour la détermination des pouvoirs antiseptiques des gaz ou des vapeurs.

6° Pour les liquides et les solutions miscibles au milieu utilisé, la meilleure méthode paraît être celle où l'on emploie les cultures en milieu liquide.

7° Dans le cas de substances solides, il est nécessaire

de les dissoudre et de noter le dissolvant, puisque les résultats varient suivant sa nature. Il en est de même pour les liquides ou solutions non miscibles au milieu employé.

Vu par le président de la thèse
HUTINEL

Vu : Pour le Doyen,
L'assesseur,
POTAIN

Vu et permis d'imprimer :
Le Vice-recteur de l'Académie de Paris
GRÉARD.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- Arloing.** — *C. R. Société Biologie*, 1885, p. 275.
- Behring.** — Ueber Desinfection und Desinfectionsmittel.
(*Zeitschrift fur Hygiene*, t. IX. p. 395).
- Blaizot et Caldagués.** — *C. R. Société Biologie* 1893, p. 1001.
- Cadéac et Meunier.** — Recherches exp. sur l'action antiseptique des essences. (*Annales Institut Pasteur*, 1890).
- Chamberland.** — Les essences au point de vue de leurs propriétés antiseptiques. (*Annales Institut Pasteur*, 1887).
- Chamberland et Fernbach.** — La désinfection des locaux.
(*Mêmes annales*, 1893).
- Chassevant et Got.** — Sur la valeur antiseptique du Benzène. (*C. R. Société Biologie*, 1896, p. 473).
- Christmas (J. de).** — Sur la valeur antiseptique de l'Ozone.
(*Institut Pasteur*, 1893).
- Cornil et Babès.** — Les Bactéries.
- Courboulès.** — Thèse de Lyon 1883.
- Davaine.** — *Gazette médicale*, 1874.
- Dubief.** — *Bulletin de thérapeutique*, 1889.
- Duclaux.** — *Microbiologie* 1898, T. II. p. 461.

- Duclaux.** — Action antiseptique de l'acide formique. (*An. de l'Inst. Pasteur*, 1892).
- Dumas.** — *C. R. Acad. des sciences*, T. LXXV.
- Dunbar.** — Untersuchungen ueber den Typhus Bac. und den Bac. coli comm. (*Zeitschrift fur Hygiene*, 1892, p. 485).
- Esmarch.** — La richesse en germes des murs et des surfaces. (*Zeitschrift f. Hyg.*, 1887).
- Fraenkel.** — Action de CO² sur la vitalité des bactéries. (*Zeitschrift f. Hyg.*, t. V, p. 332).
- Fonseca** (Angelo). — Pouvoir antisept. de l'iodoforme. (*Soc. Biologie*, 1899, p. 590).
- Geppert.** — Zur Lehre von den Antiseptica (*Berliner Klin. Wochensch.*, 1889, n° 36 et 1890, n° 11).
- Grasset.** — L'antisepsie et les anciens, 1900.
- Hammer.** — Ueber die desinficierende Wirkung der Kresolen (*Archiv. fur Hyg.*, 1891).
- Heider.** — Ueber die Wirksamkeit der Desinfectionsmittel bei erhöhter Temperatur (*Centralbat. fur Bact.*, t. XI, 1891).
- Heule.** — (*Archiv. fur Hygiene*, t. IX, p. 188).
- Horvath.** — (*Pflugers Archiv.*, 1878, t. XVII).
- Hoppe-Seyler.** — Action de l'O sur les fermentations. (*Festschrift. Strasbourg*, 1881).
- Jalan de la Croix.** — Das Verhalten der Bacterien des Fleischwassers gegen einige Antiseptica (*Archives fur experim. Pathologie und Pharmac.*, 1881, p. 175).
- Klepzoff.** — (*Centralblatt für Bact.* XVII, 1895, p. 289).
- Koch.** — Ueber Desinfection (*Mittheilungen aus dem kaiserlich. Gesundheitsamte*, 1881).

- Künz.** — Action CHI_3 sur les bactéries (*Ziegler's Beitrage, Iéna*, 1887).
- Laplace.** — (*Deutsche medic. Wochenschrift*, 6 octobre, 1887)
- Laveran et Vaillard.** — (*C. R. Soc. Biologie*, 1893, p. 335.
- Ledoux-Lebard.** — Action de la lumière sur le B. de la diphthérie. (*Archives de méd. expérimentale*, 1893.)
- Miquel.** — Les organismes vivants de l'atmosphère, 1882.
- Pansini.** — *Rivista d'igiène*, 1889.
- Pottevin.** — Recherches sur le pouvoir antisept. de l'aldéhyde formique. (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1894.)
- Raulin.** — *Annales Sciences naturelles*, 1870.
- Richet.** — *C. R. Société Biologie*, avril, 1885.
- Remonchamp et Sugg.** — *Mouvement hygiénique. Bruxelles*, 1890.
- Sonntag.** — Ueber die Bedeutung des Ozons als Desinfectiens. (*Zeitschrift f. Hyg.*, 1890.)
- Straus.** — Action du suc gastrique sur quelques microbes pathogènes. (*Archiv. Méd. Expér.* 1889.)
- Tarnier et Vignal.** — Recherches expérimentales sur l'action de quelques antiseptiques sur le streptocoque et le staphylocoque. (*Archives Méd. Exp.* 1890, p. 469.)
- Thoinot.** — *Annales de l'Institut Pasteur*, 1890, p. 500.
- Vincent.** — Etude sur la valeur comparée des différents désinfectants chimiques actuels. (*Annales Institut Pasteur*, 1895.)
- Yersin.** — *Annales Institut Pasteur*, 1888, p. 60.
- Zuyter.** — Sur l'iodoforme. (*Langenbeck's Archives XXXV.*)

